

CAMOMILA (*MATRICARIA CHAMOMILLA L.*) SOB DIFERENTES SOLVENTES: IMPACTOS NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS.

Carolina da Silva PONCIANO¹, Esaul Lucas OLIVEIRA¹, Jéssica Santos de OLIVEIRA¹, Cláudia do Nascimento SILVA, Simone Andrade GUALBERTO²,
Cristiane Patrícia de OLIVEIRA².

¹Pós-graduação em Engenharia e ciências de alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Tecnologia Rural e Animal; ² Docentes, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Tecnologia Rural e Animal.

*E-mail para contato: nutriponciano@gmail.com

RESUMO – A camomila (*Matricaria chamomilla L.*) é amplamente conhecida por suas propriedades terapêuticas e pela riqueza em compostos bioativos, como flavonoides e óleos essenciais. Estes compostos são frequentemente estudados por seus potenciais benefícios à saúde, incluindo efeitos antioxidantes e antimicrobianos. O objetivo deste estudo foi comparar a atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos aquoso e etanólico das flores secas de camomila, investigando a eficácia dos diferentes métodos de extração. Para isso, foram preparados extratos aquosos e etanólicos que foram avaliados quanto à atividade antioxidante utilizando o método de captura de radicais livres DPPH e à atividade antimicrobiana por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) contra cepas de alguns microrganismos patogênicos. Os resultados indicaram que o extrato etanólico apresentou atividade antioxidante superior ao extrato aquoso, conforme é indicado pelos valores de EC50 (73,5 µg/mL e 192,8 µg/mL) e Índice de Atividade Antioxidante (0,3 e 0,1), embora ambos tenham demonstrado baixa atividade antioxidante. Em relação à atividade antimicrobiana, não foram observadas diferenças entre os extratos e nenhum efeito bacteriostático foi identificado para as cepas estudadas. O extrato etanólico se mostrou mais eficaz na extração de compostos antioxidantes; enquanto a atividade antimicrobiana para os dois processos de extração foi limitada.

Palavras-chave: DPPH; Flavonoides; Radicais livres; Compostos bioativos.

CHAMOMILE (*MATRICARIA CHAMOMILLA L.*) UNDER DIFFERENT SOLVENTS: IMPACTS ON THE ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS

ABSTRACT – Chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) is widely known for its therapeutic properties and richness in bioactive compounds, such as flavonoids and essential oils. These compounds are frequently studied for their potential health benefits, including antioxidant and antimicrobial effects. The objective of this study was to compare the antioxidant and antimicrobial activities of aqueous and ethanolic

extracts from dried chamomile flowers, investigating the efficacy of different extraction methods. To this end, aqueous and ethanolic extracts were prepared and evaluated for antioxidant activity using the DPPH free radical scavenging method and for antimicrobial activity through the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) against strains of some pathogenic microorganisms. The results indicated that the ethanolic extract exhibited superior antioxidant activity compared to the aqueous extract, as indicated by the EC₅₀ values (73.5 µg/mL and 192.8 µg/mL) and Antioxidant Activity Index (0.3 and 0.1), although both demonstrated low antioxidant activity. Regarding antimicrobial activity, no differences were observed between the extracts, and no bacteriostatic effect was identified for the strains studied. The ethanolic extract was more effective in extracting antioxidant compounds, while the antimicrobial activity for both extraction processes was limited.

Keywords: DPPH; Flavonoids; Free Radicals; Bioactive Compounds.

1. INTRODUÇÃO

A camomila (*Matricaria chamomilla* L.), é uma planta herbácea pertencente à família Asteraceae, é amplamente reconhecida por suas propriedades terapêuticas e utilizada na fitoterapia e medicina popular. As flores da camomila são particularmente apreciadas por sua riqueza em compostos bioativos, incluindo flavonoides como quercetina, apigenina e luteolina, terpenóides e óleos essenciais como camazuleno e bisabolol. Esses componentes são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas (Santos et al., 2020).

A atividade antioxidante da camomila é um dos aspectos mais estudados de sua atuação, refletindo sua alta concentração de compostos fenólicos que contribuem para suas propriedades terapêuticas. O excesso de radicais livres podem causar danos oxidativos como, envelhecimento, câncer e entre outras doenças. A atividade antioxidante tem como função impedir ou diminuir esses danos causados (Santos et al., 2020; Pacifico, 2018).

Estudos têm demonstrado que a camomila possui uma notável capacidade de neutralizar radicais livres e reduzir o estresse oxidativo, um fator chave na prevenção de doenças crônicas. Além disso, a planta exibe atividade antimicrobiana contra uma ampla gama de microrganismos patogênicos, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Suas propriedades anti-inflamatórias também a tornam útil para o tratamento de condições inflamatórias e irritações da pele (Mohamed et al., 2024).

A eficácia dos extratos de camomila pode variar significativamente dependendo do método de extração utilizado. O extrato aquoso, obtido por infusão ou decocção das flores, é conhecido por extrair compostos hidrossolúveis, como flavonoides e polissacarídeos, que demonstram propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Em contraste, o extrato etanólico, preparado com etanol ou outros solventes etanólicos, pode extrair uma gama mais ampla de compostos bioativos, incluindo terpenóides e óleos essenciais, que podem potencializar a atividade antimicrobiana. A escolha do método de extração e do solvente é crucial, pois influencia diretamente a composição final do extrato e, conseqüentemente, suas propriedades funcionais (Cvetanović et al., 2015).

Portanto, é importante investigar como os diferentes métodos de extração afetam as propriedades terapêuticas dos extratos de camomila. Essa investigação fornece uma visão valiosa sobre o potencial dos extratos de camomila e sua capacidade de preservação. Além disso, avaliam a viabilidade dos métodos de extração utilizados. Diante disso, os principais objetivos desta pesquisa são: (i) obter extrato de camomila por extração aquosa e etanólica; (ii) analisar o potencial antioxidante dos extratos aquoso e etanólico de camomila utilizando ensaio de captura de radicais livres; e (iii) avaliar a atividade bacteriostática desses extratos frente as diferentes cepas bacterianas, com foco em patógenos comuns.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Aquisição e Preparo das Amostras

A Camomila (*Matricaria chamomilla* L.) foi adquirida no comércio local da cidade de Itapetinga, Bahia/Brasil. As flores secas da camomila foram coletadas e, em seguida, foram maceradas em almofariz com auxílio de um pistilo de porcelana, até obtenção de um pó fino, garantindo que a estrutura das flores fosse adequadamente fragmentada para a extração eficiente dos compostos ativos.

2.2. Preparação e Processamento dos Extratos de Camomila

O pó obtido das flores secas de camomila foi utilizado para preparar dois tipos de extratos: um extrato aquoso e um extrato etanólico. Este procedimento foi adaptado de Rufino et al. (2007). Para a preparação do extrato aquoso, utilizou-se água deionizada aquecida como solvente, enquanto para o extrato etanólico foi empregado álcool etílico a 70%, conforme a necessidade do experimento. A escolha desses solventes foi fundamentada nas suas capacidades distintas de extrair compostos lipossolúveis e hidrossolúveis presentes nas flores secas de camomila.

O pó da camomila foi pesado e transferido para um erlenmeyer, ao qual o solvente foi adicionado na proporção de 1:10 (m/v). As amostras foram agitadas manualmente para garantir a completa homogeneização dos componentes. Em seguida, a mistura foi mantida em repouso por 24 horas em um local escuro e à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), permitindo assim a extração completa dos compostos ativos.

Após o período de extração, a mistura foi filtrada utilizando papel filtro (Unifil qualitativo – procedência alemã, de 16 mm de espessura, e velocidade de filtração de 20-25 s) em um funil de vidro. O líquido filtrado, que constitui o extrato, foi coletado em um recipiente limpo, enquanto o resíduo sólido foi descartado de maneira apropriada. O extrato obtido foi armazenado em frascos de vidro âmbar, em um local fresco e seco, para preservar a integridade dos compostos ativos.

Por fim, o extrato foi congelado a -80°C por 72 horas e, em seguida, liofilizado a uma temperatura de $-50 \pm 2^\circ\text{C}$, sob uma pressão a vácuo inferior a 138 μHg , com velocidade de sublimação de 1 mm/h, utilizando um liofilizador de bancada (Freeze-dryer Alpha 1-2 LD plus, CHRIST) por 24 horas. Este processo foi realizado para reduzir o volume do solvente e aumentar a concentração dos compostos ativos. As

amostras liofilizadas foram armazenadas em frascos de vidro âmbar à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) até a realização das análises.

2.3. Ensaio de Captura de Radicais Livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazil)

A capacidade antioxidante via redução de radicais livres foi determinada pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), que consiste na captura do radical DPPH por antioxidantes levando à redução do composto e, conseqüentemente, diminuição da absorbância da solução, conforme descrito por Rufino et al. (2007). Em tubos de ensaio foi adicionada uma alíquota de 0,1 mL de cada extrato contendo 3,9 mL da solução etanólica (etanol - álcool absoluto 99,8%) do radical DPPH, o qual teve a absorbância inicial ajustada para a faixa de 0,6 a 0,7 em espectrofotômetro (UV-1800, Shimadzu, Japão) a 515 nm.

Após 40 minutos de incubação no escuro e à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), a redução do radical livre DPPH foi medida através da leitura da absorbância a 515 nm. O mesmo procedimento foi realizado com etanol substituindo a amostra, considerada como branco. Os resultados foram expressos em EC_{50} , valor que estima a concentração de antioxidante necessária para inibir em 50% a concentração inicial do radical DPPH, calculado de acordo com a Equação 1. Os resultados também foram expressos em Índice de Atividade Antioxidante (IAA), calculado de acordo com a Equação 2.

$$EC_{50} = \frac{IC_{50}}{[DPPH]_{t=0}} \quad (1)$$

$$IAA = \frac{\text{concentração de DPPH } (\mu\text{g.mL}^{-1})}{EC_{50} (\mu\text{g.mL}^{-1})} \quad (2)$$

2.4. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

As cepas bacterianas utilizadas para a realização dos experimentos foram: *Escherichia coli* (ATCC 35212, ATCC 8739, ATCC 25922), *Enterococcus faecalis* (ATCC 31299, ATCC 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 29553, ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300, ATCC 29913, ATCC 25921), *Proteus vulgaris* (ATCC 0169), *Salmonella* spp. (CBAM 0015). Estas foram obtidas da Coleção de Bactérias da Amazônia (CBAM), vinculada à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), e da coleção do Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). As cepas foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton, preparado de acordo com as orientações do fabricante e esterilizado, e foram armazenadas em freezer a -5° C.

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos e filmes foi conduzida de acordo com o protocolo do CLSI (2003), com algumas adaptações. Utilizando placas de microtitulação de 96 poços, com fundo em “U”, foram pipetados 90 µL de Caldo Mueller Hinton (CMH) em todos os poços destinados ao teste do extrato aquoso. Em seguida, foram adicionados 90 µL dos extratos aquosos nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 mg.mL, em colunas distintas, descartando 90 µL da solução residual após homogeneização. O mesmo procedimento foi realizado para o

extrato etanólico. Para obter essas concentrações, os extratos foram dissolvidos em água deionizada.

Preparou-se uma solução para cada microrganismo-teste usando solução salina (0,9%), diluindo a cultura do microrganismo até atingir a concentração padrão de 0,5 da escala de McFarland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL. Os microrganismos-teste foram previamente cultivados conforme suas condições específicas. Adicionou-se 10 μ L da suspensão de cada microrganismo nos poços e incubou-se a placa a 35°C por 24 horas.

Para cada microrganismo, foram realizados controles negativos e positivos. O controle negativo incluiu a inoculação das bactérias em poços com meio de cultura e diluente (DMSO 5%), para verificar a atividade antibacteriana do diluente, e a incubação do meio de cultura com as bactérias, para confirmar a viabilidade. O controle positivo consistiu em poços com meio de cultura e o antibiótico Ofloxacino (10 mg/mL⁻¹), para garantir a eficácia do antibiótico, e poços com Caldo Mueller Hinton, para verificar a esterilidade do meio. Todos os controles foram realizados em triplicata.

Para a revelação, adicionou-se 30 μ L de solução aquosa de resazurina (0,01%) em todos os poços e incubou-se a 35°C por 3 horas. A CIM foi definida como a menor concentração de extrato que inibe o crescimento bacteriano, evidenciado pela coloração azulada após a adição da resazurina.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de DPPH revelou que o extrato de camomila etanólico apresentou maior atividade antioxidante em comparação ao extrato aquoso. Esta diferença é evidenciada pelos valores de EC₅₀ e Índice de Atividade Antioxidante (IAA) dos dois extratos, conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1 - Comparação dos parâmetros dos extratos de camomila

	EC ₅₀ μ g/mL	IAA
Extrato de camomila aquoso	192,8	0,1
Extrato de camomila etanólico	73,5	0,3

De acordo com os critérios estabelecidos por Scherer e Godoy (2009), onde a atividade antioxidante é classificada como baixa quando IAA < 0,5; moderada quando IAA está entre 0,5 e 1, forte quando IAA está entre 1 e 2, e muito forte quando IAA é > 2, ambos os extratos de camomila demonstraram baixa atividade antioxidante, uma vez que seus valores de IAA são inferiores a 0,5. Esses resultados indicam que, apesar das diferenças na concentração de antioxidantes extraídos, a capacidade antioxidante dos extratos de camomila, tanto aquoso quanto etanólico, é relativamente baixa.

A relação entre a porcentagem de inibição do radical DPPH e a concentração dos extratos pode ser observada nas Figuras 1 e 2, que exibem os resultados para o extrato aquoso e o extrato etanólico, respectivamente. A inibição do radical DPPH em função da concentração dos extratos foi modelada por regressão linear $y = -0,0000409 + 0,65193$ com $R^2 = 0,9917401592$ para o extrato aquoso, e $y = -0,00009 + 0,5998$ com $R^2 = 0,9738$ para o extrato etanólico.

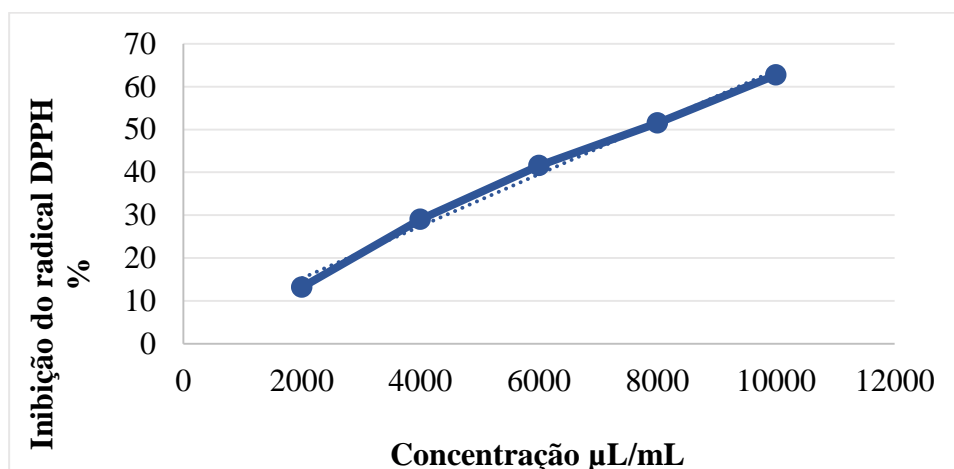


Figura 1 - Capacidade antioxidante do extrato aquoso de camomila.

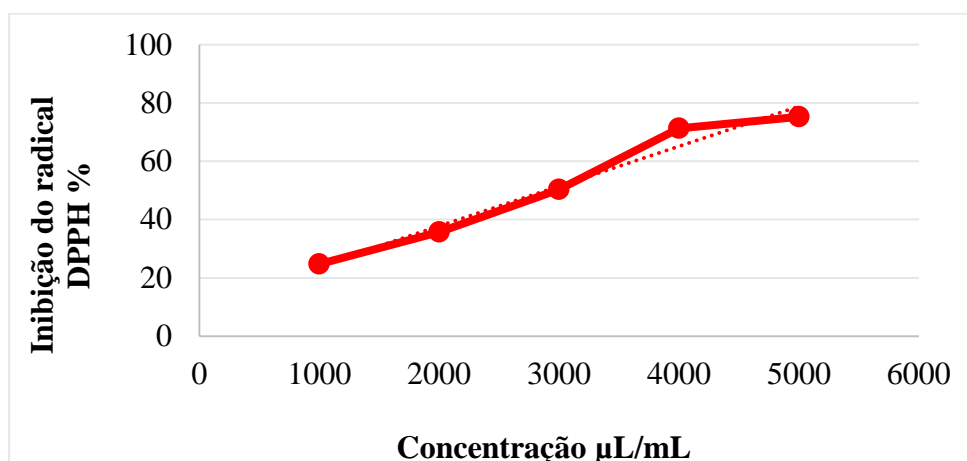


Figura 2 - Capacidade antioxidante do extrato etanólico de camomila.

Os dados indicam que a porcentagem de inibição aumenta com a concentração dos extratos, evidenciando que concentrações mais elevadas de ambos os tipos de extrato são mais eficazes na neutralização do radical DPPH. Segundo Catani et al. (2021) os polifenóis que podem ser extraídos da camomila, como às flavonas (apigenina, luteolina e suas gliconas) é o que favorece ao extrato o potencial antioxidante, isto em termos de redução da geração de radicais e aumento dos níveis de glutatona reduzida.

Observou-se que, para alcançar uma porcentagem semelhante de inibição, foi necessário utilizar o dobro da concentração do extrato aquoso em comparação ao extrato etanólico. Esse fenômeno pode ser explicado pela maior capacidade do etanol de extrair compostos antioxidantes.

O etanol é um solvente mais eficiente para dissolver uma ampla gama de compostos bioativos, incluindo flavonoides, fenóis e outros antioxidantes secundários, que possuem propriedades de neutralização de radicais livres. Estudos recentes confirmam que o etanol pode extrair uma quantidade maior de compostos antioxidantes

do que a água devido à sua capacidade de dissolver substâncias que não são solúveis em água (Borges et al. 2020; Cvetanović et al., 2015).

Portanto, os dados obtidos são consistentes com a literatura, que sugere que o etanol é um solvente mais eficiente para a extração de compostos antioxidantes. Isso explica por que o extrato etanólico apresentou atividade antioxidante mais potente em comparação com o extrato aquoso, necessitando de menores concentrações para alcançar resultados semelhantes de inibição do radical DPPH.

Por outro lado, a análise de atividade antimicrobiana, realizada por meio da Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), não revelou diferenças entre os extratos. Nenhuma inibição do crescimento das bactérias *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* e *Salmonella spp.* foi observada em resposta aos extratos etanólico e aquoso em todas as concentrações testadas. Em outras palavras, os extratos não apresentaram efeito bacteriostático.

Corroborando com os dados apresentados por Brito e Silva (2022), que utilizaram as técnicas de difusão em ágar e diluição em caldo para avaliar a atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.), e também não observaram atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* e *Salmonella entérica*. Da mesma forma, Romero et al. (2005) relataram que o extrato aquoso de camomila, avaliado por discos de difusão, não inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

El Mihyaoui et al. (2022) enfatizam que a eficiência dos extratos de camomila frente a inibição de microrganismos depende muito da composição química presente no extrato, ou seja, dos compostos ativos que o solvente conseguiu extrair da planta. Desse modo, Romero et al. (2005) destacam que os resultados atribuídos a extração aquosa, como a não inibição frente aos microrganismos pode ser devido à falta de solubilidade dos constituintes ativos nessas soluções, ou da temperatura utilizada, como uso da água quente, o que favorece a desnaturação dos compostos ativos da planta. Este resultado coloca em prova a eficácia dos chás de plantas medicinais, que muitas vezes são preparados em água quente por fervura ou infusão.

4. CONCLUSÃO

Os resultados mostram a maior eficácia do etanol na extração de compostos antioxidantes da camomila, mas indicam que os solventes não extraíram compostos com atividade antimicrobiana relevante para as cepas testadas.

Recomenda-se a exploração de novos solventes e métodos de extração em futuras pesquisas para avaliar melhor o potencial terapêutico da camomila.

5. REFERÊNCIAS

BORGES, A., JOSÉ, H., HOMEM, V., SIMÕES, M. Comparison of Techniques and Solvents on the Antimicrobial and Antioxidant Potential of Extracts from *Acacia dealbata* and *Olea europaea*. **Antibiotics**, v. 9, n. 2, p. 48, 2020.



"Tecnologia e Inovação: o papel da ciência nos novos desafios da indústria de alimentos"

BRITO, A. E. O., SILVA, C. S. M. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais de especiarias do norte do Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e52011226047-e52011226047, 2022.

CATANI, M. V., RINALDI, F., TULLIO, V., GASPERI, V., SAVINI, I. Comparative analysis of phenolic composition of six commercially available chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) extracts: Potential biological implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 10601, 2021.

CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 6. ed. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2003. (Approved standard; M7-A6).

CVETANOVIĆ, A., ŠVARC-GAJIĆ, J., MAŠKOVIĆ, P., SAVIĆ, S., NIKOLIĆ, L. Antioxidant and biological activity of chamomile extracts obtained by different techniques: perspective of using superheated water for isolation of biologically active compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 582-591, 2015.

EL MIHYAOUI, A., SILVA, J. C. E., CHARFI, S., CASTILLO, M. E. C., LAMARTI, A., ARNAO, M. B. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): a review of ethnomedicinal use, phytochemistry and pharmacological uses. **Life**, v. 12, n. 4, p. 479, 2022.

MOHAMED, R. S., ALAGAWANY, M., ATTIA, A. I., ISMAIL, F. S., SALAH, A. S., DI CERBO, A., EL-MEKKAWY, M. M. The role of chamomile oil against ochratoxin A in quail breeders: productive and reproductive performances, egg quality, and blood metabolites. **Poultry Science**, v. 103, n. 3, p. 103440, 2024.

PACÍFICO, D. D. M., ARAÚJO, T. D. S. L., SOUSA, N. A. D., COSTA, D. S. D., SOUZA, L. K. M. D., PEREIRA JÚNIOR, J. L., MEDEIROS, J. V. R. Prospecção científica e tecnológica de *Matricaria recutita* L. (Camomila). **Revista GEINTEC: Gestão, Inovação e Tecnologias**. 2018.

ROMERO, C. D., CHOPIN, S. F., BUCK, G., MARTINEZ, E., GARCIA, M., BIXBY, L. Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. **Journal of ethnopharmacology**, v. 99, n. 2, p. 253-257, 2005.

RUFINO, M. D. S. M., ALVES, R. E., BRITO, E. S., MORAIS, S. M., SAMPAIO, C. D. G., PÉREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH, 2007.

SANTOS, A. R. F. C., CRUZ, J. H. A., GUÊNES, G. M. T., FILHO, A. A. O., ALVES, M. A. S. G. *Matricaria chamomilla* L: propriedades farmacológicas. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, [S. l.], v. 8, n. 12, 2020.

SCHERER, R., GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 654–658, 2009.